

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号:

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

纳米顺铂核-铁蛋白诱导胃癌细胞凋亡的蛋白质组学研究

Proteomic Analysis of Gastric Cancer Cell Apoptosis

Induced with Nanometer Cisplatin Core-Ferritin

季学涛

指导教师姓名: 黄河清 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2011 年 05 月

论文答辩时间: 2011 年 06 月

学位授予日期: 2011 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2011 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

中文摘要	I
Abstract	III
1. 前言	1
1.1 铁蛋白概述	1
1.1.1 铁蛋白的结构	1
1.1.2 铁蛋白的生理功能	3
1.1.2.1 铁离子解毒、储存和释放	3
1.1.2.2 铁蛋白的其他生理功能	5
1.2 铁蛋白纳米包装的研究	6
1.2.1 铁蛋白作为纳米药物载体的可行性	6
1.2.2 铁蛋白纳米包装的策略与方法	7
1.3 顺铂的抗癌机制及在肿瘤治疗中的应用	9
1.4 蛋白质组学及其在肿瘤研究中的应用	11
1.4.1 蛋白质组学在肿瘤研究中的方法和技术	11
1.4.2 蛋白质组学在肿瘤研究中的应用	12
1.5 本论文主要研究内容和意义	12
2. 材料和方法	14
2.1 实验材料	14
2.2 实验仪器设备	14
2.3 主要试剂	15
2.4 常用试剂的配制	16
2.4.1 天然聚丙烯酰胺凝胶电泳与 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳相关试剂配制	16
2.4.2 三种凝胶染色液	19
2.4.3 pH 10-14 NaOH 溶液	20

2.4.4 双向电泳与蛋白鉴定相关试剂	20
2.4.5 细胞实验部分相关试剂	21
2.4.6 Real-time PCR 实验部分相关试剂	22
2.5 实验方法	22
2.5.1 猪胰铁蛋白与脱铁核猪胰铁蛋白的制备	22
2.5.1.1 铁蛋白粗提液的制备	22
2.5.1.2 铁蛋白细分离纯化	23
2.5.1.3 脱铁核猪胰铁蛋白的制备	23
2.5.2 铁蛋白的理化性质分析	23
2.5.2.1 蛋白浓度的测定	23
2.5.2.2 铁蛋白含铁量测定	24
2.5.2.3 铁蛋白的天然电泳分析	24
2.5.2.4 铁蛋白的 SDS 变性电泳分析	24
2.5.2.5 紫外可见和荧光光谱检测 PPF、apoPPF 紫外可见与荧光特征	25
2.5.3 铁蛋白弱碱解离与重组研究	25
2.5.3.1 不同 pH 条件下 apoPPF 解离与重组的电镜标本的制备与观察	25
2.5.3.2 CD 光谱分析 apoPPF 在不同 pH 条件的二级结构变化情况	26
2.5.3.3 荧光光谱分析 apoPPF 在不同 pH 条件下的光谱变化以及 pH 13 复性重组的情况	26
2.5.4 纳米顺铂核猪胰铁蛋白 (NCC-PPF) 的构建及其性质研究	26
2.5.4.1 NCC-PPF 的构建	26
2.5.4.2 NCC-PPF 的电镜形态以及紫外、荧光和 CD 光谱特征	27
2.5.4.3 ICP-MS 检测 NCC-PPF 包装 CDDP 量	27
2.5.5 NCC-PPF 诱导 BGC 823 胃癌细胞凋亡研究	27
2.5.5.1 BGC 823 胃癌细胞分组及处理	27
2.5.5.2 激光共聚焦显微镜观察 apoPPF 与 BGC 823 胃癌细胞的结合	28
2.5.5.3 MTT 法和流式细胞术检测 NCC-PPF 对 BGC 823 胃癌细胞的影响	28
2.5.5.4 差异蛋白质组学研究 NCC-PPF 诱导 BGC823 胃癌细胞凋亡	29

2.5.5.5 Real-time PCR 检测差异蛋白 mRNA 相对含量	31
3 结果与讨论	34
3.1 PPF 的分离纯化及理化性质	34
3.1.1 PPF 的分离纯化	34
3.1.2 PPF 分子结构和光谱特性	35
3.1.2.1 PPF 分子结构的基本特点	35
3.1.2.2 PPF 的光谱特性	36
3.1.3 PPF 的亚基特性	38
3.2 碱解离重组法构建纳米顺铂核-铁蛋白 (NCC-PPF)	39
3.2.1 pH 的选择	40
3.2.2 apoPPF 包装 CDDP 的能力	45
3.2.3 NCC-PPF 的一般性质研究	46
3.2.3.1 NCC-PPF 的光谱性质	46
3.2.3.2 NCC-PPF 的电镜形态	47
3.3 APOPPF 结合 BGC 823 胃癌细胞的能力	47
3.4 NCC-PPF 诱导 BGC 823 胃癌细胞凋亡的差异蛋白组学研究	48
3.4.1 NCC-PPF 抑制 BGC 823 胃癌细胞生长的能力与药物缓释作用	48
3.4.2 流式细胞术检测 NCC-PPF 诱导 BGC 823 胃癌细胞凋亡的能力	51
3.4.3 NCC-PPF 诱导 BGC 823 胃癌细胞凋亡的差异蛋白质研究	53
3.4.5 NCC-PPF 与 CDDP 诱导的差异蛋白鉴定结果分析	63
3.4.6 Real-time PCR 分析差异蛋白基因转录水平变化	68
4 小结	72
参考文献	74
缩略语表	81

Contents

Chinese abstract.....	I
English abstract	III
1. Introduction.....	1
1.1 Summary of ferritin	1
1.1.1 Structure of ferritin	1
1.1.2 The physiological function of ferritin.....	3
1.1.2.1 Iron detoxification, storage and release	3
1.1.2.2 Other physiological functions of ferritin	5
1.2 Nanometer encapsulation of ferritin.....	6
1.2.1 Possibility of nanometer encapsulation with ferritin.....	6
1.2.2 Strategy and methods for ferritin nanometer encapsulation	7
1.3 Anticancer mechanism of cisplatin and application in cancer herapy	9
1.4 Proteomics and its application in cancer research	11
1.4.1 Methods and techniques of Proteomics in cancer research.....	11
1.4.2 Applications of Proteomics in cancer research	12
1.5 Contents and significance of this study	12
2. Materials and methods	14
2.1 Materials.....	14
2.2 Main equipments.....	14
2.3 Main reagents.....	15
2.4 Preparation of reagents.....	16
2.4.1 Regents of native PAGE and SDS-PAGE	16
2.4.2 Three kinds of gel dyeing liquid.....	19
2.4.3 pH 10-14 NaOH liquid	20
2.4.4 Regents of 2-DE and protein identification	20
2.4.5 Regents of cell test.....	21
2.4.6 Regents of Real-time PCR	22
2.5 Methods.....	22

2.5.1 Preparation of PPF and apoPPF	22
2.5.1.1 Preparation of PPF rude extraction	22
2.5.1.2 fine purification of PPF	23
2.5.1.3 Preparation of apoPPF	23
2.5.2 Physical and chemical properties analysis of ferritin	23
2.5.2.1 Determination of protein concentration.....	23
2.5.2.2 Determination of PPF iron content.....	24
2.5.2.3 Native PAGE analysis of PPF.....	24
2.5.2.4 SDS-PAGE analysis of PPF	24
2.5.2.5 UV-visable and fluorescence characteristics PPF and apoPPF	25
2.5.3 Dissociation and recombination research of apoPPF by weak alkalinity	25
2.5.3.1 The preparation and observation of apopPPF under different pH using TEM	25
2.5.3.2 The secondary structure changes of apopPPF under different pH using CD spectrometry	26
2.5.3.3 Fluorescence spectrum analysis of apoPPF in different pH conditions and the spectral changes of recombination from pH13 to neutral.....	26
2.5.4 Constructing NCC-PPF and the common properties study	26
2.5.4.1 Constructing NCC-PPF	26
2.5.4.2 The morphology of NCC-PPF underTEM and UV-visable, fluorescence and CD spetra	27
2.5.4.3 The quantity of CDDP encapsulated in NCC-PPF tested by ICP-MS ..	27
2.5.5 Study of NCC-PPF inducing apoptosis of BGC 823 cells.....	27
2.5.5.1 Cell grouping and treatment of BGC 823 cells.....	27
2.5.5.2 The conbination of apoPPF to BGC 823 cells investigated by Laser confocal microscope	28
2.5.5.3 The influence of NCC-PPF on BGC 823 cells tested by MTT and Flow Cytometry	28
2.5.5.4 Proteomic analysis of BGC823 apoptosis induced by NCC-PPF	29
2.5.5.5 mRNA relative content test by Rea-ltime PCR.....	31

3 Results and Discussion.....	34
3.1 Separation and purification of PPF and its physical and chemical properties	34
3.1.1 Separation and purification of PPF.....	34
3.1.2 molecular structure of PPF and spectral characteristics	35
3.1.2.1 The basic structure characteristics of PPF	35
3.1.2.2 spectral characteristics of PPF	36
3.1.3 Subunits of PPF	38
3.2 Constructing NCC-PPF by weak alkalinity dissociation and recombination method.....	39
3.2.1 pH Selecting	40
3.2.2 The capacity apoPPF encapsulating CDDP.....	45
3.2.3 The common characteristics of NCC-PPF.....	46
3.2.3.1 The spectral characteristics of NCC-PPF	46
3.2.3.2 The morphology of NCC-PPF under TEM.....	47
3.3 The ability of apoPPF combine to BGC 823 cells	47
3.4 proteomics analysis of NCC-PPF inducing BGC 823 cell apoptosis	48
3.4.1 The effect of NCC-PPF inhibits BGC 823 cell growth and slow-release of CDDP	48
3.4.2 The effect of NCC-PPF inducing BGC 823 cell apoptosis investigated by Flow Cytometry	51
3.4.3 The differential proteomics of of BGC 823 cell induced by NCC-PPF	53
3.4.5 Analysis of differentially expressed proteins induced by NCC-PPF and CDDP	63
3.4.6 Real-time PCR analysis of the differentially expressed proteins	68
4 Summary	72
References.....	74
Abbreviations	81

中文摘要

癌症是威胁人类健康的重大疾病之一，全球各国政府部门和科研机构已投入大量的人力、物力和财力进行研制抗肿瘤药物、研究肿瘤发生发展机制和临床治疗技术等，并已获得大量显著的研究成果；尤其在抗肿瘤药物方面，已开发出多种高效抗肿瘤的新药物，并成功用于临床治疗。目前，现有的抗肿瘤药物还存在毒性强、疗效低和副作用大等缺陷。研制抗肿瘤新药仍然是药学领域的热点和具有挑战性的重大课题之一。纳米药物是刚刚兴起不久的新兴药物，由于其在提高药物稳定性、缓释、建立新的给药途径以及减少药物毒副作用方面的突出作用，应用前景广阔。铁蛋白是自然界中的一种分子结构极为特殊蛋白质，它不仅具有在 pH 3.0~10、70 °C 高温以及高盐等恶劣环境下不变性等特点，而且该蛋白还具有直径达可达 10 nm 空腔结构，很适合用于构建纳米药物核-铁蛋白，起到纳米药物载体和输送药物的作用。

本文采用猪胰铁蛋白（PPF）为研究材料，首先采用透射电子显微镜、圆二色性（CD）光谱和荧光光谱探讨了在弱碱（pH）条件下，脱铁核猪胰铁蛋白（apoPPF）亚基解聚与重组的过程和规律。发现当反应介质的 pH 提升到 13.0 时，apoPPF 迅速解离成游离的亚基；当中和反应介质时，已解离的亚基又能重新组装成铁蛋白。利用这一特性，构建了纳米顺铂核-猪胰铁蛋白（nanometer CDDP core-PPF, NCC-PPF），并研究了其基本的理化性质，发现 NCC-PPF 的紫外光谱、CD 光谱和电镜形态与 apoPPF 极为相似；但两者的荧光光谱有所差异，280 nm 激发下，其最大发射波长红移了约 20 nm。采用电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）技术分析，发现每分子 apoPPF 可储存 11.26 个顺铂分子，构成 NCC-PPF。MTT、流式细胞术和蛋白质组学技术被应用于进一步检测 NCC-PPF 和 CDDP 对 BGC 823 胃癌细胞凋亡的影响，以探讨这两种不同的给药途径诱导 BGC 823 细胞凋亡的差异性和起因。MTT 的实验结果指出：相同 CDDP 含量和相同且较短时间（如 24 h）内，NCC-PPF 对胃癌的细胞毒性要低于游离的 CDDP，其主要原因 NCC-PPF 具有缓释 CDDP 功能，在相同的作用时间内，NCC-PPF 释放的 CDDP 数量较少。随着作用时间延长，NCC-PPF 不断地释放已包装的 CDDP，对胃癌细胞活性抑制率率逐渐升高。流式细胞术的

实验结论也反应了类似的结果,随着时间的增加,流式检测到的 NCC-PPF 处理组凋亡细胞数量增加明显。同样说明包装在 NCC-PPF 的 CDDP 存在一个缓慢释放的过程,随着时间的增加,其诱导细胞凋亡的能力才逐步发挥出来。选用蛋白质组学及相关分析技术,筛选出 NCC-PPF 和 CDDP 诱导胃癌细胞凋亡过程中表达的 19 个差异蛋白,并采用肽质量指纹(PMF)图谱技术给予逐一鉴定。按生物功能进行划分,这些差异蛋白质参与了细胞凋亡调节、RNA 转录、氧化应激、信号传导、细胞代谢、细胞骨架形成等过程。其中,以乳酸酰谷胱甘肽裂解酶,过氧化物还原酶 2 和肌动蛋白 β 亚基为代表的 8 个蛋白,表达趋势一致;而以磷酸甘油酸变位酶为代表的 4 个蛋白表达趋势不同。肿瘤细胞表达的多数差异蛋白趋势相同,少量蛋白存在差异,说明 NCC-PPF 和 CDDP 诱导胃癌细胞凋亡途径与主要机制很可能相同。选择 Real-time PCR 技术进一步验证这些差异蛋白质。总共 12 个被验证的差异蛋白中,有 10 符合度较好,说明差异蛋白的鉴定结果可信度较高。本研究为后续深入研究在体内 NCC-PPF 和 CDDP 诱导胃癌细胞凋亡分子机制,提供实验基础和科学依据,具有重要的科学意义和潜在的应用价值。

关键词: 猪胰铁蛋白; 纳米顺铂核猪胰铁蛋白; 纳米药物载体; 顺铂; 蛋白质组学

Abstract

Cancer is one of the major diseases which seriously threat human health. Lots of governments and research institutions have been put a lot of effort into researching new anti-tumor drugs, investigating the mechanism of tumorigenesis and developing clinical treatment technologies, and have obtained a large number of significant achievements. Especially in terms of anticancer drugs, it has developed a variety of highly active anti-cancer drugs, and successfully applied in clinical treatment. However, in currently, the anti-cancer drugs exist problems of high toxicity, low efficacy and strong side effects. Development of new anti-tumor drugs is still a hot area of medicine and one of the major challenge issues. Nano-drug is a kind of emerging drug which is considered having broad prospect of application because of its possibility of increasing drug stability, controlling release, creating new route of administration and reducing of side effects. Ferritin is a special kind of protein which can tolerate pH 3-10, 70 °C high temperature, high salt and other harsh environments. Ferritin has the unique cavity whose diameter can reach to 10 nm which is suitable for building nanometer medicine core ferritin. And ferritin can be applied for Nano-drug carriers and delivering drugs.

In this research, the pig pancreas ferritin (PPF) was used as materials. Transmission electron microscopy (TEM), circular dichroism (CD) spectrometry and fluorescence spectrometry was used to explore the weak alkalinity pH influencing the disassociation and recombination of the subunits of apoPPF, firstly. It was found that when pH reach to 13, the subunits of apoPPF could disassociate, and then the subunits could re-aggregated after reduce the pH to neutral. The weak alkalinity disassociation and recombination method was used to construct nanometer CDDP core-PPF, (NCC-PPF). And the common characteristics of it have been investigated. The UV-spectrometry, CD spectrometry and morphology under TEM is similar to apoPPF; but the fluorescence spectrometry is a little different to apoPPF, the λ_{max} of emission spectra is red shift of 20 nm. The ICP-MS was used to investigate the number of

CDDP which encapsulated in ferriitn, and it was calculated that one apoPPF can encapsule 11.26 CDDP. MTT colorimetry, Flow cytometry and proteomic techniques were applied to detect the influence of NCC-PPF and CDDP on BGC823 gastric cancer cell apoptosis in order to investigate the possible different pathway of inducing apoptosis by these two different administration. The results of MTT indicated that the cytotoxicity of NCC-PPF is weaker than free CDDP under the same CDDP concentration and during a short time as 24 h. It is mainly because the release of CDDP encapsulated in NCC-PPF is slow-release. The quantity of active CDDP release by NCC-PPF is lesser than free CDDP. However, The NCC-PPF could constantly release CDDP and so the inhibition rate increased with time. The results of flow cytometry are similar to MTT, the apoptosis rate of gastric cancer cells increase significantly with time treated by NCC-PPF. It is also indicated that the process of CDDP release in NCC-PPF is slow-release. 19 differentially proteins expressed by BGC823 cells treated by NCC-PPF and CDDP were detected by the two dimensional electrophoresis (2-D), and indentified by PMT (peptide mass fingerprint). These proteins can be classified in 6 groups including regulation of apoptosis, RNA transcription, oxidative stress, signal transduction, cell metabolism and cytoskeleton changes. 8 proteins represented by lactoylglutathione lyase, Peroxiredoxin-2 and β actin expressed consistent; 4 proteins represented by phosphoglycerate mutase expressed differently. These results may inspire that the main mechanism of inducing apoptosis between these two administrations is similar but at the same time exist minor difference mechanisms. Finally, the Real-time PCR was used to inspect and confirm the differentially expressed proteins revealed by proteomics research. 10 of 12 proteins inspected by Real-time PCR are consistent well with 2-D results which indicated that the results of differentially expressed proteins are credible. This research will contribute to investigation the molecular mechanisms of NCC-PPF and CDDP inducing gastric cancer apoptosis in vivo.

Key words: pig pancrease ferritin (PPF); nanometer CDDP core-PPF, (NCC-PPF); nano-drug carrier; cisplatin; proteomics

1. 前言

1.1 铁蛋白概述

铁蛋白是在十九世纪七八十年代研究血铁黄素蛋白（hemosiderin）的过程中被初步发现的。1937 年 Laufberger 从马脾中成功分离并正式命名为铁蛋白（ferritin）^[1]。经过近一百年的研究，现在对铁蛋白已经获得了较为丰富的认识。众多的研究表明铁蛋白是一种广泛存在于动物、植物和微生物中的可溶性储存铁的蛋白质，在铁代谢的过程起着至关重要的作用^[2]。

1.1.1 铁蛋白的结构

在 X 射线晶体衍射技术应用于铁蛋白结构解析之前，关于铁蛋白的结构信息主要是来自于电子显微镜，这主要得益于铁蛋白非常大的分子尺寸。一般铁蛋白的直径可以达到 12 nm，而蛋白空腔的内径可以达到 8 nm^[3]。采用负染技术电镜下铁蛋白呈现较为规则的圆球形，外面一圈颜色浅，呈白色；内部颜色深，呈现灰黑色。现在知道外面浅色的部分是蛋白质壳；由于电子密度低而呈现白色。深色部分为铁核，电子密度高^[4]。

随着 X 晶体衍射技术在蛋白质结构领域的应用，越来越多的蛋白质的结构已经获得了解析，并根据衍射数据进行了蛋白质的三维重构，其中包括多种铁蛋白^[5,6]。X 晶体衍射技术显示铁蛋白的结构主要由蛋白质壳、铁核和物质隧道构成，如图 1 B 所示。结构相对比较简单。蛋白质壳从亚基构成上来说通常是由 24 个亚基按一定的排列方式组合而成。少数铁蛋白则由 12 个亚基构成^[7]。铁蛋白的 24 个亚基以通过 4、3、2 对称的方式构建成一个紧密而有序的壳体。反向平行的亚基二聚体对形成一个菱形的十二面体结构的平面。近来 Hsieh 等还应用磁共振力显微镜获得了和电镜相似的铁蛋白结构图^[8]。

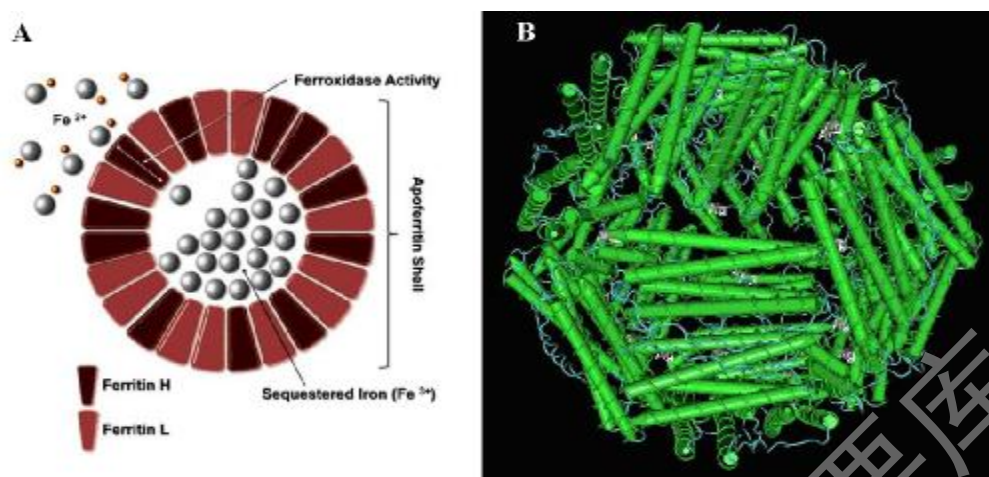


图 1 铁蛋白结构

Fig.1 The structure of ferritin

A: 模式图, B: 三维结构图

从铁蛋白亚基的种类上来看,一般认为在进化上较低等的生物含有一种类型的亚基,而进化上较高等的生物则含有两种类型的亚基,少数生物还含有三种类型的亚基,即 H、L 和 M 亚基^[9,10]。例如,细菌铁蛋白(bacterial ferritin)和鲨鱼肝铁蛋白(liver ferritin of shark, SLF)均由单类型亚基组成^[11,12]。而哺乳动物铁蛋白蛋白壳多由 H 和 L 两种类型亚基组成^[13]。细菌铁蛋白的一大特征是其含有其他种类生物铁蛋白所没有的血红素^[14]。H 和 L 亚基的划分主要是按其生物学功能划分的。H 亚基主要负责铁的矿化和铁核晶体形成, L 亚基起着提供酸性残基,以促进或加速铁成核的作用^[15,16]。

由于铁蛋白亚基的特殊结合方式,在蛋白壳的特定部位构成一些隧道。一般认为主要包含 3 种类型的隧道,即二相、三相隧道和四相隧道^[17]。这些隧道被认为是铁蛋白核与外界物质交换的通道^[18]。

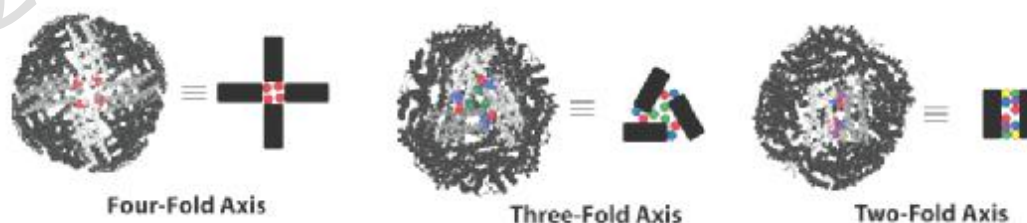


图 2 铁蛋白的三种隧道模式图

Fig.2 Three different channels of ferritin

铁核被蛋白质壳包裹于铁蛋白内部。铁核中包含大量的铁,多者甚至可以达

到 4500 铁原子/铁蛋白。铁核中铁的含量变化较大，不同物种，不同组织，不同生理时期含铁量均不相同^[19]，即其含铁量是动态变化的。铁核中的铁是三价无毒的状态，并与磷酸盐结合^[20]。

1.1.2 铁蛋白的生理功能

1.1.2.1 铁离子解毒、储存与释放

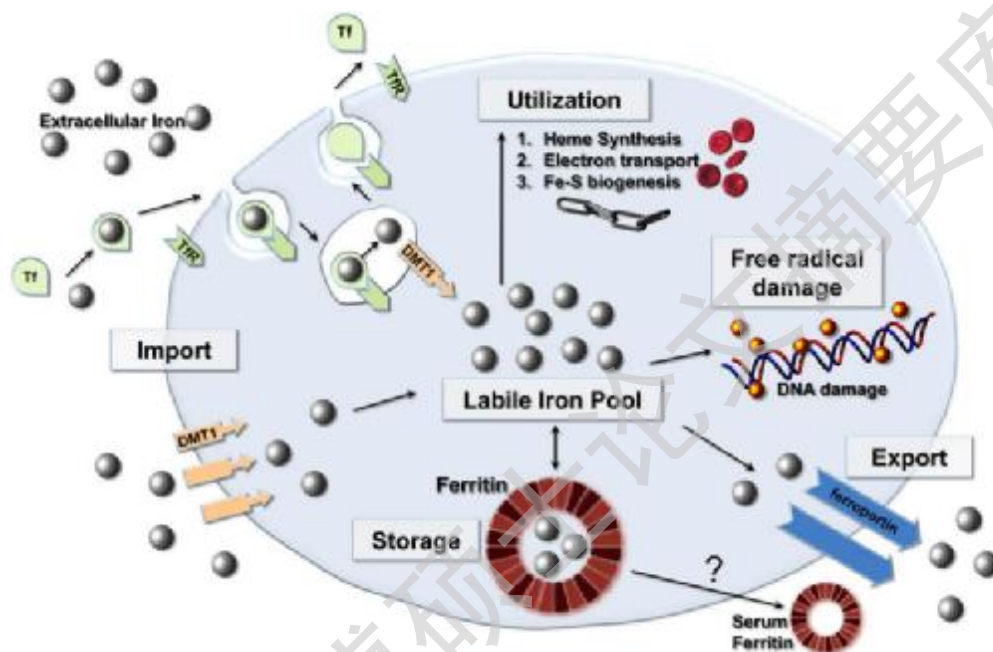
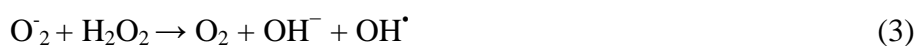
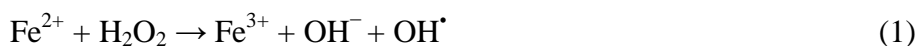


图 3 铁蛋白与机体内铁代谢

Fig.3 Ferritin and iron metabolism

铁是生物机体不可缺少的金属元素之一，它是血红蛋白、肌红蛋白辅因子的重要组成部分，在结合和运输氧方面发挥着重要作用^[21]；同时它还是细胞色素的组成成分，在电子传递方面发挥重要作用^[22]；此外铁还是某些氧化还原酶类的辅酶。铁蛋白在体内铁代谢平衡过程中占据重要地位，如图 3 所示。在生物体内游离的二价铁离子是有剧毒性的，其主要原因是游离的二价铁离子可以催化 Fenton 反应^[23]。



Fenton 反应可以产生大量的以 OH^\cdot 为主的自由基。而 OH^\cdot 可以通过电子转移等途径诱发自由基链反应，可以进攻多数生物大分子如细胞膜脂质、蛋白质、

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库